

# Trabalho Conclusão Curso

**JULIANO TESKE**

**TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS**

**CURITIBANOS**

**2017**



Universidade Federal de Santa Catarina  
Centro de Ciências Rurais  
Curso de Medicina Veterinária

# **TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS**

Trabalho de Conclusão do Curso, apresentado a Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Campus Curitibanos, sob orientação do professor Giuliano Moraes Figueiró, como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Medicina Veterinária.

**CURITIBANOS**

**2017**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Teske, Juliano

TRANSFERÊNCIAS DE EMBRIÕES EM EQUINOS REALIZADAS NO  
HARAS NOVO TETO EM BIGUAÇU- SC, NO PERÍODO DE ESTÁGIO  
CURRICULAR REALIZADO DE JULHO A NOVEMBRO DE 2017 - RELATO  
DE CASO / Juliano Teske ; orientador, Giuliano Moraes  
Figueiró , 2017.

52 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus  
Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária,  
Curitibanos, 2017.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. I. Figueiró , Giuliano Moraes  
. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em  
Medicina Veterinária. III. Título.

Juliano Teske

## **TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do  
Título de Medicina Veterinária e aprovado em sua forma final pela Banca  
Examinadora

Curitiba - SC, 04 de dezembro de 2017.

---

Prof. Alexandre Tavela, Dr.

Coordenador do Curso

### **Banca Examinadora:**

---

Prof. Dr. Giuliano Moraes Figueiró,

Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof. Dr. Marcos Henrique Barreta

Universidade Federal de Santa Catarina

---

Médico Veterinário Me. André Lucio Fontana Goetten

Universidade Federal de Santa Catarina

*Dedico este trabalho exclusivamente a Deus  
por me dar força para vencer os obstáculos durante  
este percurso.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus por me dar saúde e força para concluir esta etapa da minha vida e realizar esse sonho que trago comigo desde criança.

À minha família em especial meu pai Joãozinho Teske e minha mãe Dirce aparecida Pinto, minha namorada Hanayane Bandeira da Silva.

A todos meus amigos, onde alguns foram muito além do mundo acadêmico e com certeza hoje são como irmãos para mim.

A todos os professores que tive na graduação em especial prof. Dr. Giuliano Moraes Figueiró e prof. Dr. Alexandre Tavela, Prof. Dr. Marcos da Silva Azevedo que sempre estiveram presentes nos momentos que precisei.

A equipe da Central da Serra e do Haras Novo Teto pela disponibilidade nesse período de aprendizado em especial ao meu supervisor Thiago Bedin.

Enfim, agradeço a todos aqueles que me ajudaram e me apoiaram de forma direta ou indiretamente e que vieram a contribuir para concluir este trabalho, finalizar essa etapa e realizar esse sonho.

Muito obrigado.

*“Quando colocamos Deus no inicio ele cuida do Fim”  
(autor desconhecido).*

## **RESUMO**

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica da reprodução que resumidamente consiste na retirada de um embrião do útero de uma égua doadora e transferi-lo para o útero de uma égua receptora, a qual será a responsável pela gestação e amamentação do potro. O objetivo deste trabalho é relatar o perfil das transferências de embriões em equinos realizadas no haras Novo Teto em Biguaçu– SC, no período entre julho a novembro de 2017, demonstrando a produção das doadoras e a taxa de prenhez das receptoras. As coletas foram feitas pelo método de lavagem uterina transcervical não cirúrgica, onde foram utilizadas quatro éguas doadoras de embriões da raça quarto de milha e sete éguas receptoras mestiças. As taxas encontradas foram de 80% para taxa de recuperação embrionária, 20% de taxa de perda embrionária precoce e 40% de taxa de prenhez sobre as coletas e 50% de taxa de prenhez sobre os embriões recuperados.

**Palavras-chave** – transferência de embriões, equinos.



## **ABSTRACT**

The embryo transfer (ET) is a biotechnique of reproduction which briefly consists in the removal of an embryo from the uterus of a donor mare and transferring it to the uterus of a receiving mare, which will be responsible for the gestation and breastfeeding of the foal. The aim of this manuscript is to report the embryo transfers in horses performed in Haras Novo Teto in Biguaçu-SC, in the period between July to November of 2017, demonstrating the production of donors and the pregnancy rate of the receivings. The collections were done by a non surgical method of uterine flushing, where were used four donor mares' embryos of the quarter-horse race and seven receiving mares with mixed races. The rates found were, 80% of embryonic recovery and 20% of early embryonic loss. Pregnancy rate per collection was 40% and per recovered embryos were 50%.

**Keywords – embryo transfer, horses.**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Resultados obtidos das TE's realizadas no Haras Novo Teto no período de agosto a novembro de 2017.....	47
---	----

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Vista Lateral do trato reprodutivo da égua.....	17
<b>Figura 2.</b> Figura esquemática do procedimento de recuperação embrionária.	30
<b>Figura 3.</b> Equipamento de manipulação do embrião composto por uma palheta de congelamento de sêmen de 0,25 ou 0,5ml, adaptador e seringa de 1ml. ...	31
<b>Figura 4.</b> Embrião equino Grau 1 no estágio de blastocisto inicial. ....	32
<b>Figura 5.</b> Embrião equino (Grau 1) no estágio de blastocisto.....	33
<b>Figura 6.</b> Embrião equino (Grau 1) no estágio de blastocisto expandido .....	33
<b>Figura 7.</b> Embrião de grau 2 no estágio de blastocisto inicial; presença de blastô- meros extrusados (setas). ....	33
<b>Figura 8.</b> Embrião de grau 3 no estágio de mórula, com grande percentual de blastômeros extrusados (setas). ....	34
<b>Figura 9.</b> Oócitos degenerados, grau 4 .....	34
<b>Figura 10.</b> Par de ovócitos não fertilizados.....	34
<b>Figura 11.</b> Figura esquemática mostrando os estágios embrionários. ....	35
<b>Figura 12.</b> Figura esquemática mostrando o embrião entre colunas ar e de fluidos dentro de uma palheta. ....	36
<b>Figura 13.</b> Figura esquemática mostrando a passagem pela cerviz no momento da inovulação. ....	37
<b>Figura 14.</b> Acompanhamento crescimento Folicular.....	39
<b>Figura 15.</b> Procedimento de lavagem do útero na coleta de embrião .....	41
<b>Figura 16.</b> Procedimento de recuperação do embrião pelo copo coletor .....	42
<b>Figura17.</b> Processo de lavagem dos embriões.....	43
<b>Figura18.</b> Embrião equino coletado com 8 dias após a ovulação vista em imagem no microscópio.....	46

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**AIE** – Anemia Infecciosa Equina

**CE** – Ciclo Estral

**CL** – Corpo Lúteo

**CH-** Corpo Hemorrágico

**°C-** Graus Célsius

**EHV-1-** Herpesvírus tipo I

**FSH-** Hormônio Folículo Estimulante

**GnRH-** Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

**hCG-** Gonadotrofina Coriônica Humana

**IM-** Intramuscular

**LH-** Hormônio Luteinizante

**mg-** Miligrama

**ml-** Mililitro

**mm-** Milímetros

**P4-** Progesterona

**PGF2 $\alpha$ -** Prostaglandina

**PBS-** Solução Salina Tamponada em Fosfato

**TE-** Transferência de embrião

**UFO-** Ovócito Não Fertilizado

## LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

º - Número ordinal

® - Marca Registrada

# SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS – RELATO DE CASO .....</b>	<b>15</b>
<b>1. OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
1.1 OBJETIVO GERAL .....	16
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>16</b>
2.1 ASPECTO ANATÔMICO DAS ÉGUAS.....	16
2.2 ASPECTO FISIOLÓGICO DAS ÉGUAS .....	17
2.2.1 Fisiologia na Produção de Óvulos e Fertilização .....	Error! Bookmark not defined.
2.2.2 Sazonalidade e ciclo estral .....	19
2.3 MANEJO REPRODUTIVO EM UM PROGRAMA DE TRANSFERENCIA DE EMBRIÕES .....	20
2.3.1 Importância Sanitária e Nutricional .....	20
2.3.2 Registros .....	21
2.3.3 Sistemas de cobertura .....	21
2.3.4 Hormônios mais comuns ligados à reprodução equina .....	22
2.4 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM EQUINO .....	24
2.4.1 História .....	24
2.4.2 Seleção e Manejo da doadora .....	25
2.4.3 Seleção e Manejo da Receptora .....	26
2.4.4 Sincronização e ovulação .....	27
2.4.5 Coleta de embriões .....	29
2.4.6 Manipulação e Classificação do embrião .....	31
2.4.7 Inovulação .....	35
2.4.8 Confirmação da gestação com uso da ultrassonografia transretal.....	37
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>43</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>49</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>51</b>



## INTRODUÇÃO

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica da reprodução que resumidamente consiste na retirada de um embrião do útero de uma égua doadora e transferi-lo para o útero de uma égua receptora, a qual será a responsável pela gestação e amamentação do potro. A finalidade da TE é obter mais de um potro ao ano por égua. Além disso, possibilita a retirada de produtos de éguas velhas e éguas com histórico reprodutivo de não conseguirem emprenhar ou gestar. Permite também que as éguas não se afastem de competições por conta da gestação e cuidados com o potro. Congelamento do embrião para uso futuro?

O conhecimento da anatomia e fisiologia reprodutiva da égua é de suma importância para se alcançar sucesso no manejo reprodutivo. Os procedimentos básicos realizados na transferência de embriões são a seleção e preparação da égua receptora, a sincronização da ovulação entre doadoras e receptoras, a cobertura ou inseminação artificial da égua doadora, a colheita do embrião da doadora, para depois realizar a procura, envase e a transferência para a égua receptora.

Este trabalho teve como objetivo relatar 10 transferências de embriões em equinos da raça Quarto de Milha (QM) realizadas no haras Novo Teto no município de Biguaçu –SC, descrevendo as taxas de recuperação embrionária, e de prenhez além de, descrever a técnica e os equipamentos utilizados.



**TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS – RELATO DE  
CASO**

## 1. OBJETIVOS

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Relatar NÚMERO transferências de embriões em equinos realizadas no haras novo teto em Biguaçu– SC, no período entre julho a novembro de 2017, demonstrando a produção das doadoras, taxa de prenhez das receptoras, com intuito de melhorar os índices de embriões efetivados e das taxas de prenhez em futuras coletas e transferências de embriões.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a taxa de embriões coletados no haras.
- Descrever a taxa de prenhez confirmadas dos embriões que foram inovulados nas receptoras.
- Descrever a técnica e os equipamentos utilizados na transferência de embrião.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ASPECTO ANATÔMICO DAS ÉGUAS

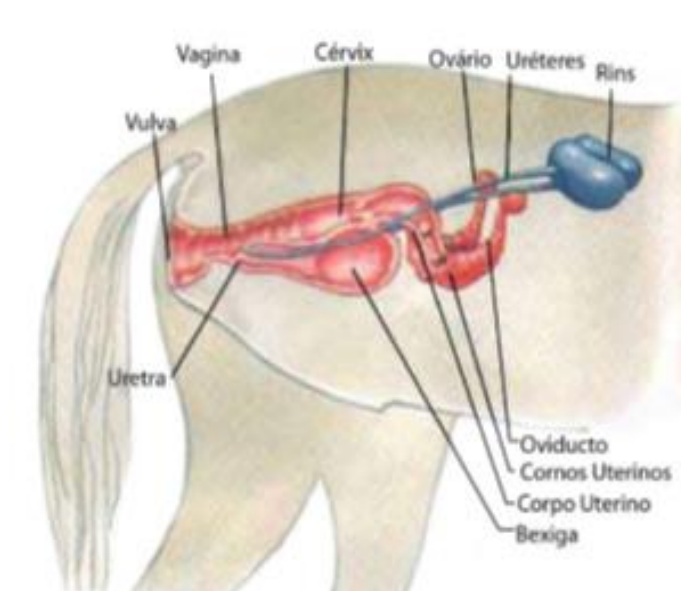
O conhecimento da anatomia reprodutiva da égua é de suma importância para se alcançar sucesso em um manejo reprodutivo e diminuir perdas econômicas. O aparelho reprodutivo da égua é composto por dois ovários, dois ovidutos, dois cornos uterinos, corpo do útero, cérvix, vagina e vulva. A glândula mamária também faz parte do sistema reprodutivo (figura 1) (TEZZA & DITTRICH, 2006).

Segundo Silva & Quaresma (2017) *apud* Ginther (1979), os ovários têm uma posição anatômica variável, pois o mesovário permite um elevado grau de movimento passivo. O ovário esquerdo situa-se caudalmente ao ovário direito e

mais perto do rim ipsilateral. O tamanho dos ovários varia entre os 7 e 8 cm, dependendo da fase do ciclo reprodutivo e da atividade folicular. O ovário é maior em éguas mais jovens e tende a ficar mais fibroso à medida que a égua envelhece.

Os ovidutos se estendem desde os extremos dos cornos uterinos até à fossa da ovulação, dividindo-se em ampola, que cobre a fossa da ovulação, e istmo, que termina numa papila na extremidade do corno uterino. Os cornos uterinos tem o formato em “V” e se divergem acentuadamente a partir do ligamento. O útero tem 20 cm de tamanho em éguas não gestantes terminando na cérvix (SILVA & QUARESMA, 2017 *apud* KAINER, 2011). A cérvix se estende desde o orifício interno do útero até ao orifício externo localizado na vagina que se estende até a vulva. Preconiza-se que a vulva tenha uma posição vertical sem nenhum desvio e os lábios vulvares devem coaptar-se completamente, não permitindo a entrada de ar na vagina (LEY, 2013).

**Figura 1.** Vista Lateral do trato reprodutivo da égua



FONTE: adaptado de SILVA & QUARESMA, 2017.

## 2.2 ASPECTO FISIOLÓGICO DAS ÉGUAS

### 2.2.1 Controle e Desenvolvimento Folicular

Na fêmea equina, é importante o aumento da luminosidade diária para que haja diminuição da produção de melatonina pela glândula pineal e consequentemente maior produção de GnRH pelo hipotálamo. Esse aumento de luminosidade ocorre na primavera/verão e estimula a ciclicidade das éguas e por isso, estas fêmeas são classificadas como poliétricas estacionais (TEZZA & DITTRICH, 2006).

O hipotálamo é responsável por secretar GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), que vai atuar na hipófise e provocar a liberação de LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante). O FSH vai estimular o desenvolvimento dos folículos ovarianos, os quais, irão produzir estrogênio que é o hormônio responsável pela manifestação do estro (TEZZA & DITTRICH, 2006). Os níveis de LH, por sua vez, permanecem baixos durante o diestro, mas aumentam progressivamente durante o estro atingindo o pico no momento da ovulação (FUTINO, 2005). O LH tem atuação também no corpo hemorrágico (formado no ovário após a ovulação do folículo dominante), estimulando a produção de progesterona ( $P_4$ ) que é o principal hormônio responsável pela manutenção da gestação (TEZZA & DITTRICH, 2006).

Segundo FUTINO (2006) *apud* ALLEN et al.(1975) a luteinização do corpo hemorrágico (CH) ocorre rapidamente elevando a concentração plasmática de  $P_4$  após a ovulação. A atividade luteínica dura cerca de 16 dias na fêmea não-gestante. A regressão funcional do CL (corpo lúteo) começa 6 horas após a liberação endógena de  $PGF2\alpha$  e está completa em 36 horas. Geralmente, a égua está em estro dentro de 24 horas após a regressão do CL quando na presença de folículos secretando estrógeno. Éguas gestantes mantêm o CL e os níveis de  $P_4$  se manterão elevados até aproximadamente 140 dias de gestação.

No que diz respeito ao desenvolvimento folicular na égua, esse pode ser dividido em três fases, sendo elas: recrutamento, seleção e dominância. As éguas apresentam uma ou duas ondas foliculares durante o ciclo estral. O padrão envolve um pequeno grupo de folículos de 8 a 12 folículos com

diâmetro menor que 10 mm, onde os folículos com menos de 1 mm são destinados a sofrer atresia e os folículos maiores de 10 mm irão crescer, mas apenas um e ocasionalmente dois em algumas raças, aumentam se diferenciando (LEY, 2013). O folículo pré-ovulatório atinge um diâmetro de 30 a 60 mm onde irá ocorrer a ovulação que ocorre através da fossa ovulatória (FUTINO, 2005).

### **2.2.2 Sazonalidade e ciclo estral**

Éguas são poliéstricas estacionais apresentando váriosaios somente em uma época do ano, primavera/verão. É exatamente quando os dias se tornam mais longos com a temperatura maior e com a pastagem mais exuberante que melhora o escore nutricional dos animais, fazendo com que as éguas saiam do anestro e iniciem os ciclos estrais (TEZZA & DITTRICH 2006). Existe um período entre a passagem das éguas, que estão em anestro para o período cíclico, que é conhecido como período transicional, onde elas apresentam comportamento de cio, porém não desenvolvem estruturas foliculares capazes de ovular (LEY, 2013).

Um período de 15 a 16 horas de duração do dia ou de estímulo luminoso irá atuar sobre o eixo pineal-hipotalâmico-hipofisário-gonadal, interrompendo a produção de melatonina. A diminuição dos níveis de melatonina estimulam uma maior liberação de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) pelo hipotálamo, aumentando a produção hipofisária dos hormônios folículo estimulante (FSH) e luteinizante (LH) e induzindo ao recrutamento, seleção e dominância folicular (LEY, 2013).

Segundo Tezza & Dittrich (2006), o ciclo estral nas éguas dura de 18 a 24 dias, com média de 21 dias. As fases são basicamente estro ou também conhecida como fase folicular (3-8 dias – influência do estrógeno), período em que a égua apresenta-se receptiva ao garanhão e com o trato genital é preparado para receber e transportar os espermatozoides até o local da fecundação, e diestro ou também conhecida como fase luteínica (13-17 dias – influência da progesterona). As éguas ovulam 24-48 horas antes do final do cio

(pico de LH) com tamanho folicular médio de 40 a 45 mm. Fora da estação de monta, a maioria das éguas entra em anestro, com exceção daquelas em áreas tropicais com luminosidade e calor durante todo o ano.

Durante o período de transição desde o anestro de inverno até a estação de monta, a duração do ciclo estral pode ser muito variável individualmente. Podendo se apresentar prolongado no início da primavera, curto durante o solstício de verão e se prolongando novamente no outono (FUTINO, 2005).

## 2.3 MANEJO REPRODUTIVO EM UM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES

### 2.3.1 Importância Sanitária e Nutricional

De acordo com SILVA (2014) *apud* WILSON (2011) para manter a sanidade geral do rebanho, deve-se realizar um planejamento para controle e prevenção de doenças com o intuito de eliminar qualquer doença que afete negativamente a concepção, gestação e o desenvolvimento dos potros. As éguas devem ser mantidas em ambiente onde possam estar expostas aos agentes infecciosos para que adquiram imunidade, não permitindo que qualquer destes agentes possa vir a prejudicar o feto e causar aborto, assim como realizar um programa de vacinação das principais doenças que atingem a região e causam aborto.

Em relação a algumas causas infecciosas como o Herpesvírus tipo I (EHV-1) e a Leptospirose, a vacinação é uma estratégia de prevenção. Para prevenir o EHV-1, recomenda-se vacinar as éguas no quinto, sétimo e nono mês de gestação. A vacinação contra a leptospirose deve ser feita com a aplicação de duas doses, no intervalo de 30 dias, e reforço semestral. Além do controle de roedores e animais silvestres. Caso tenha ocorrência de aborto, os restos placentários e o feto deverão ser eliminados (LEY, 2013).

O desequilíbrio nutricional é uma das principais causas de infertilidade das éguas reprodutoras. Uma alimentação equilibrada permite a égua estar em um ótimo estado corporal, o que permitirá que a égua tenha um ciclo estral regular, uma boa formação de corpo lúteo e consequentemente uma gestação com bom suprimento fetal. Um dos maiores riscos da transferência de embrião está na alimentação de éguas receptoras, pois por se tratar de um animal de menor valor zootécnico muitas vezes a alimentação dessas éguas é diferenciada optando-se pela de menor valor onde não atinge as necessidades diárias mínimas para que essa égua possa ciclar adequadamente e gestar. Portanto, o fornecimento da quantidade adequada de proteína, energia, vitaminas, minerais é fundamental (CINTRA, 2014).

### **2.3.2 Registros**

Para um programa reprodutivo bem conduzido os registros são obrigatórios. Eles documentam os achados, os tratamentos, o histórico reprodutivo, os ciclos estrais das éguas e com isso, auxilia o médico veterinário e o gerente do haras. Os registros devem ser completos porém de simples entendimento. Esses registros podem ser mantidos em fichários quando impressos ou em computadores (LEY, 2013).

### **2.3.3 Sistemas de cobrição**

A cobrição a campo é um dos sistemas com menor custo, porém com a maior transmissão de doenças venéreas e com mais lesões nos animais. Normalmente é utilizada uma relação de 1 garanhão com boa habilidade reprodutiva para 45 éguas (LEY, 2013).

A monta controlada é o método mais comum em um manejo reprodutivo, pode ser dividido em monta natural assistida e inseminação artificial (IA) (LEY, 2013). A monta natural assistida é feita em piquete, onde a égua com sinais claros de cio e garanhão são colocados juntos em um piquete

pequeno, sendo observados, ou ainda monta dirigida em que a égua é preparada para a monta. No método assistido se recomenda que seja feito a limpeza da vulva com papel toalha, a cauda seja enfaixada, imobilização com peia, uso de cabresto e cachimbo, só então o garanhão é levado com cabresto até a égua para realizar a cobertura (FUTINO, 2005).

De acordo com TEZZA & DITTRICH (2006) a IA, é realizada por meio da colheita do sêmen do garanhão com uso de vagina artificial, análise quanto à qualidade e quantidade, processamento, fracionamento e deposição no trato reprodutor da égua. As vantagens são: maior número de produtos/garanhão, menor risco de transmissão de doenças, animais incapazes de realizar a cobertura podem se reproduzir, não há necessidade de transporte dos animais, menor risco de acidentes, é possível obter descendentes após a morte do garanhão. As desvantagens são a necessidade de mão de obra especializada, maior custo e menor índice de prenhez. A colheita é realizada com um manequim (ou égua). O sêmen a fresco apresenta maior índice de prenhez e com técnica correta, chega a ser a mesma de monta natural. A cada 48 h, deve-se inseminar, se o cio continuar. É de uso imediato, não podendo ser armazenado. O sêmen resfriado/refrigerado é mantido de 15-20°C (12 h) ou 4 – 6 °C (máximo por 48 h), porém apresenta menor índice de prenhez. O sêmen congelado é mantido a -196°C, por tempo indefinido, porém apresenta baixo índice de prenhez: 20 a 60%, mesmo quando inseminado no máximo 6 h após a ovulação.

#### **2.3.4 Hormônios comumente ligados à reprodução equina**

##### Prostaglandinas

Dentre as prostaglandinas, a prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) e seus análogos são os hormônios mais utilizados na reprodução de equinos, sendo a via intramuscular (IM) a preferida, pois alia praticidade a menores efeitos colaterais. O retorno ao estro após a aplicação é observado em dois a cinco dias e a ovulação em sete a doze dias. Na sincronização e indução de estro, pode ser aplicada em qualquer fase do ciclo estral em duas doses, com



intervalo de quatorze dias, ou em dose única após a detecção de um CL maduro. No tratamento de endometrite, a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é eficaz em aumentar a intensidade das contrações uterinas auxiliando no processo de limpeza do útero (FARIA & GRADELA, 2010).

### Estrógenos

Os Estrógenos são hormônios esteroides associados aos sinais de estro, produzidos principalmente pelos folículos ovarianos. A secreção folicular de estrógenos atinge o pico um ou dois dias antes da ovulação (SILVA, 2014). A administração de uma pequena dose de estradiol (0,5 a 1,0 mg) em éguas em anestro profundo é capaz de induzir sinais de estro dentro de 3 a 6 horas, o que é interessante quando se deseja utilizar uma égua como “manequim” para coleta de sêmen. A administração de estradiol (50 mg, IM) ou de cipionato de estradiol (50 mg, IM) no dia seguinte à ovulação em éguas cíclicas suprime o desenvolvimento folicular sem alterar a função luteal, utilizados em programas de sincronização de estro e ovulação associados à progesterona (FARIA & GRADELA, 2010).

### Progesterona (P4) ou Progestágenos

A  $\text{P}_4$  é um progestágeno natural responsável por encerrar os sinais de estro, inibir a receptividade ao macho, preparar o útero para a recepção do embrião e manter a gestação (SILVA, 2014). As principais indicações do uso dos progestágenos incluem supressão do comportamento de estro, melhora do tônus uterino, manutenção da gestação, sincronização do estro e da ovulação em éguas cíclicas, indução de ciclo artificial em receptoras de embriões, melhoramento do aproveitamento de éguas como receptoras de embriões. (HAFEZ & HAFEZ, 2004).

### Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG)

Os agentes indutores comumente utilizados, têm-se a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). Os agentes indutores de ovulação contribuem na melhoria da eficiência reprodutiva, e sincronizam o momento das inseminações, que ocorrem num período de até 48 horas após a indução (variação de 12 a 72 horas) (MELO, 2006).

#### Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH)

O GnRH pode ser utilizado para iniciar um crescimento folicular ou para indução da ovulação. A maioria das éguas tratadas com GnRH ovulam 36 a 42 horas pós-tratamento”. A diferença no tempo de ovulação, entretanto, varia segundo a droga utilizada, sendo, em média, 24 a 48 horas para o acetato de buserelina e de 36 a 48 horas para a deslorelina. A eficiência da deslorelina em reduzir o número de coberturas, torna-a de grande auxílio para os programas de transferência de embriões e inseminação artificial (FARIA & GRADELA, 2010).

#### Ocitocina

A ocitocina é responsável pela contração da musculatura lisa do útero e oviduto, assim como das células mioepiteliais da glândula mamária. Utilizada no tratamento de endometrite, a ocitocina é o estimulante miometrial de eleição, pois auxilia na limpeza uterina em éguas com endometrite e também para indução de parto, tratamento de retenção de placenta e como estimulante para liberação do leite (FARIA & GRADELA, 2010).

## 2.4 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM EQUINO

### 2.4.1 História

A história da transferência de embriões em animais teve início em 1890, pelo cientista Walter Heape, na Inglaterra, utilizando coelhos para seus estudos (ANDRADE, 1986). No ano de 1969, ocorreu a primeira transferência de embriões em equinos, realizada por um grupo de cientistas e pesquisadores do Japão. Porém, a taxa de sucesso atingida na transferência foi somente 40%, com parte dos embriões sofrendo complicações e morrendo. Após alguns aperfeiçoamentos o procedimento começou a ter uma taxa maior de sucesso. Já no ano de 1972 Allen e Rowson, em Cambridge na Inglaterra, conseguiram fazer a primeira transferência entre equinos e muas, em que os embriões eram coletados e transferidos através de cirurgia via cavidade abdominal. (SILVA, 2014).

De acordo com SILVA (2014), no Brasil, em 1987, a biotécnica teve seu início na espécie equina, onde os grandes responsáveis foram o Médico Veterinário João Junqueira Fleury, Cezinande Meira e Marc Henry, através dos métodos cirúrgico e não-cirúrgico, respectivamente. Houve grandes avanços no que se refere à biotecnologia da TE na espécie equina, melhorando consideravelmente as taxas de prenhez de 12,5% para 74,5%. O pesquisador Farinasso no ano de 1989 encontrou, no Brasil, taxas de recuperação embrionária e de prenhez com variação de 48,3% a 83,3% e 45,5% a 80,0%, respectivamente.

#### **2.4.2 Seleção e Manejo da doadora**

Devido ao alto custo da TE, sua utilização é normalmente restrita a éguas de qualidade superior com características herdáveis, principalmente éguas de alto valor zootécnico. As principais éguas candidatas a serem doadoras são éguas com histórico de aborto, éguas que retornam repetidamente ao cio após a inseminação, éguas velhas que normalmente apresentarem endometrite levando a perda embrionária, porém com boa fertilidade e provadas em sua carreira atlética e/ou como reprodutoras. Portanto, para seleção da égua doadora deve ser considerado o seu histórico

reprodutivo, a fertilidade, o registro da raça, o valor potencial do potro resultante e o número de gestações desejadas (LIRA et. al., 2009).

O manejo reprodutivo da égua doadora de embriões consiste em monitorar o comportamento reprodutivo, com a técnica de palpação transretal e ultrassonografia para monitorar a atividade folicular e o momento certo do uso de hormônios exógenos para sincronizar o estro e ovulação. Quando está em cio, a égua doadora deve ser palpada diariamente para monitorar o crescimento folicular, permitindo o melhor momento para inseminação ou monta natural e ainda fazer o acompanhamento da ovulação (SILVA, 2014).

Segundo MONTECHIESI (2015), em relação à taxa de recuperação de embriões, observa-se uma queda de acordo com a idade da doadora. Em éguas jovens (2 a 4 anos) a média de recuperação embrionária é de 85%; em éguas adultas (4 a 18 anos) de 64,4% e para éguas velhas de 24,1%. Éguas com menos de 12 anos produzem 10% mais embriões do que éguas com mais de 18 anos. As falhas reprodutivas observadas em éguas velhas estão normalmente associadas à degeneração do oócito, distúrbios da ovulação, maturação oocitária associadas ou não à endometrite crônica, bem como distúrbios hormonais.

### **2.4.3 Seleção e Manejo da Receptora**

A seleção da receptora deve ser criteriosa, visando à eficiência do programa de TE com o menor custo. As receptoras devem ser escolhidas, desde que estas sejam saudáveis reprodutivamente, sem alterações músculo esqueléticas, boa saúde dentária e visão, boa qualidade de úbere e bom comportamento. Fatores que devem ser levados em consideração para a escolha da receptora ideal deve ser o padrão e tamanho semelhante ao da doadora e ter boa habilidade materna. Todas devem receber identificação permanente para evitar confusões no momento do registro do potro (ALONSO, 2008). Segundo FUTINO (2005), éguas virgens ou jovens, que já tenham tido um ou dois potros, são normalmente preferidas como receptoras, já que a idade avançada é um fator predisponente para a degeneração do endométrio,

que pode comprometer a manutenção de uma gestação. Entretanto, LOSIMNNO e ALVARENGA (2006) discordam desta afirmação, quando relatam que potrancas (2-4 anos), apresentam ciclos estrais erráticos mais frequentes que as adultas, e, muitas vezes, são mais agitadas para o manejo intensivo de exames retais, dificultando assim o trabalho do técnico. Outro importante aspecto a ser levado em consideração é a possibilidade de manejo da égua, podendo ser, no mínimo, bem cabresteadas, pois um animal agitado, não manejável, representa um risco para os profissionais, para ela própria e para o embrião, assim como dificultando o manejo com o potro e a realização de controle ultrassonográfico.

De acordo com LIRA et. al. (2009), as receptoras também devem ser examinadas diariamente quando em cio para monitoramento do crescimento folicular e o momento da ovulação. É preferível que pelo menos duas receptoras estejam disponíveis para cada doadora, permitindo assim, no momento da inovulação, escolher a que apresenta as melhores condições reprodutivas para receber o embrião. Classificam-se por palpação e ultrassonografia transretal em: aceitáveis, quando apresentaram corpo lúteo bem definido, tônus uterino e cervical variando de bom a excelente e nenhuma outra alteração no útero; e marginalmente aceitáveis, quando imagem do corpo lúteo é pobre ou há pouca tonicidade uterina e cervical.

Sobre a parte de sanidade das éguas receptoras, o recomendado é que quando introduzidas no rebanho, devem apresentar atestado negativo para anemia infecciosa equina e também para o mormo. Controle parasitário é um fator importante durante a gestação, pois é uma grande ameaça à saúde das éguas gestantes. Para as éguas que são mantidas longe, estas devem ser levadas ao local da parição pelo menos um mês antes do parto para que anticorpos úteis para o potro recém-nascido sejam produzidos a partir de antígenos encontrados no ambiente (FUTINO, 2005).

#### **2.4.4 Sincronização e ovulação**

As doadoras e receptoras podem ser sincronizadas de diversas formas, sendo por ovulação espontânea, indução da ovulação e terapia hormonal das receptoras. No entanto, a utilização de éguas sincronizadas naturalmente requer um número elevado de receptoras para cada doadora. Quando não é possível, a sincronização tem que ser feita recorrendo aos diversos tratamentos hormonais disponíveis, levando em consideração que é aconselhável ter pelo menos duas receptoras para cada doadora (SILVA, 2014).

E necessário que as doadoras e receptoras já estejam ciclando regularmente para serem sincronizadas, quanto aos estros e ovulações. A administração da prostaglandina é uma prática muito comum na sincronização do cio em éguas, porém a resposta a este agente luteolítico depende da presença de CL funcional, sendo que o CL só se torna responsivo a prostaglandina a partir do quinto dia após a ovulação. O uso de análogos da prostaglandina associados à aplicação de hCG ou GnRH é o protocolo mais utilizado (MEIRA, 2007).

Existem outros protocolos que podem ser utilizados, sendo que um deles é à base de P<sub>4</sub> (de curta duração ou oral) associado a estrógeno (Estradiol), administrado diariamente, na doadora e receptoras, por um período de 10 dias. Completado esse período, realiza-se uma aplicação de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  ou análogo. Após aproximadamente 3 dias da aplicação da PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , as éguas demonstraram cio. A partir do momento que um folículo de 35 mm de diâmetro ou mais, for detectado com auxílio de US pode-se realizar a indução da ovulação aplicando-se hCG ou GnRH. Lembrando que o tratamento das receptoras deve começar dois dias depois que o protocolo na doadora (LIRA et al., 2009).

Segundo SILVA (2014) *apud* WILSHER et al. (2005) a interação entre embrião e ambiente uterino deve ser de completa sintonia, fato que é essencial para o haja o estabelecimento da gestação. A progesterona tem o poder de alterar marcadamente o ambiente uterino, onde um embrião pode encontrar um local desfavorável, em um útero não sincronizado, na qual não corresponde à fase na qual ele se encontra. Essa falta de sincronia pode também impedir o

embrião de transmitir o sinal para o reconhecimento materno da gestação e, com isso, não suprimir a resposta luteolítica cíclica da égua.

Normalmente a sincronização entre doadoras e receptoras é onde, receptoras encontram-se entre o quarto e oitavo dia de ovulação, ou até mesmo no nono dia, e a doadora no sétimo ou oitavo dia de ovulação, ou seja, a coleta de embrião no dia 7 ou 8 após a ovulação e a receptora então poderia ovular um dia antes até 3 dias depois, sendo considerada apta a receber embriões neste intervalo. O ponto que tem mais importância e que é fundamental no momento da escolha da receptora para a TE, é o momento pós-ovulatório em que a receptora se encontra (SILVA, 2014).

#### **2.4.5 Coleta de embriões**

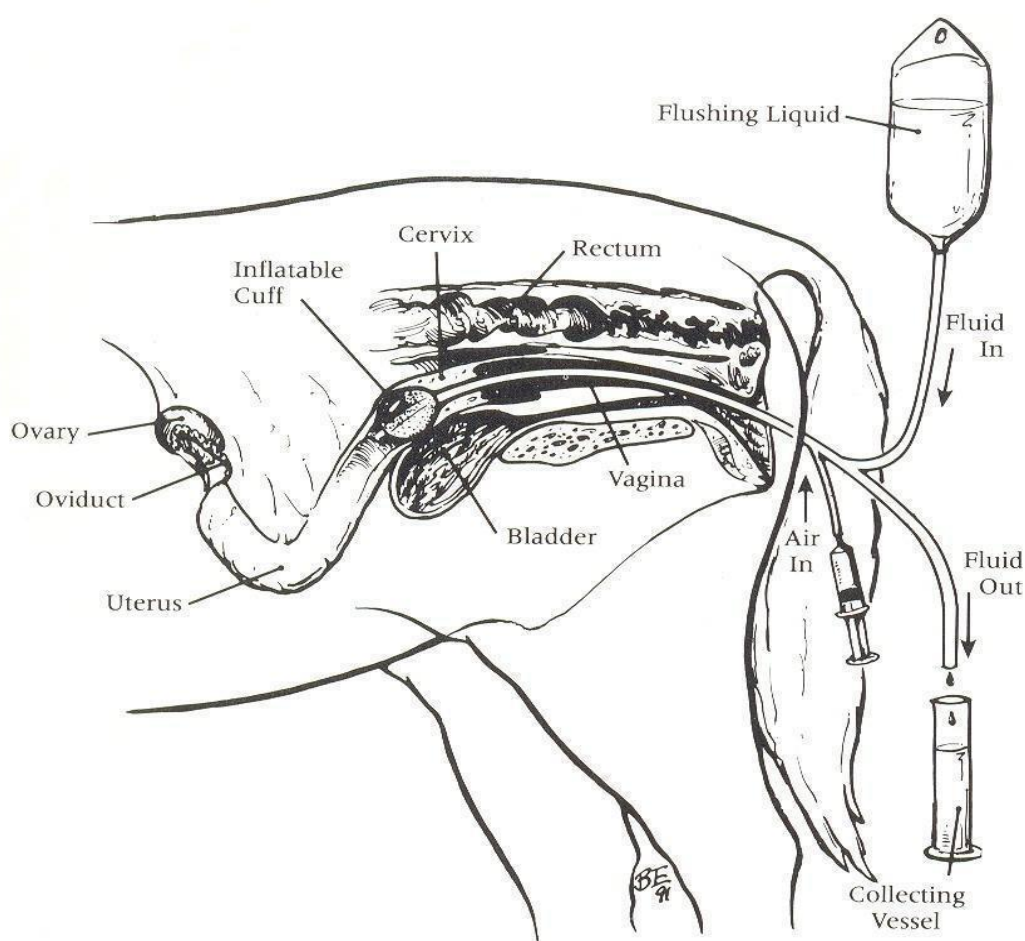
Segundo FUTINO (2005) *apud* FREMAN et al., os embriões equinos são transportados através do oviduto para o útero nos dias 5,5 a 6,0 pós-ovulação, momento no qual se encontram em estágio de mórula compacta a blastocisto inicial. Após a entrada no lúmen uterino, o tamanho do embrião aumenta significativamente enquanto se desenvolve para o estágio de blastocisto expandido. Fatores que afetam a coleta embrionária incluem o dia da coleta, a técnica de coleta, número de ovulações, idade e fertilidade da égua doadora, qualidade do sêmen, tipo de sêmen (fresco, resfriado ou congelado) e técnica de IA.

Para coletar o embrião equino utiliza-se o método de lavagem transcervical não cirúrgico (figura 2). Com a égua devidamente contida no brete, com a região perineal lavada com um detergente suave, enxaguada abundantemente com água limpa seguida de secagem. O manipulador que ira fazer o procedimento introduz um cateter ou sonda estéril munido de um balão inflável através da vagina, passando pela cérvix e chegando ao corpo uterino. Então o balão é inflado com 40 a 80 ml de ar, sendo que a quantidade de ar ira variar de égua para égua, só então é tracionado contra a abertura interna da cérvix garantindo uma oclusão completa e prevenindo a perda do líquido. (LENZI, 2008). Após a colocação da sonda, é injetado para dentro do útero de

um a dois litros de meio tamponado (Ringer Lactato ou PBS - solução salina tamponada em fosfato) (FUTINO, 2005), sendo o mais utilizado a solução de Ringer Lactato. Utiliza-se e normalmente 3 lavagens onde se coloca um litro e se não houver recuperação embrionária se coloca o segundo litro e o terceiro repetindo-se o procedimento. Portanto, após o preenchimento do útero, o fluido é drenado através do cateter (sonda) e é passado por um filtro de 0.75  $\mu\text{m}$  sendo esse filtro encontrado dentro de um copo coletor, filtro esse que irá permitir que o embrião fique retido no copo (LEY, 2013).

Terminado o processo de lavagem uterina, o filtro deve ser esvaziado em uma Placa de Petri com marcações, recomenda-se enxaguar o filtro com o meio utilizado. O fluido é examinado em busca da presença de embriões utilizando-se um microscópio ou uma lupa. Assim que o embrião é identificado, ele é classificado, lavado e transferido pra a receptora. (FUTINO, 2005).

**Figura 2.** Figura esquemática do procedimento de recuperação embrionária.



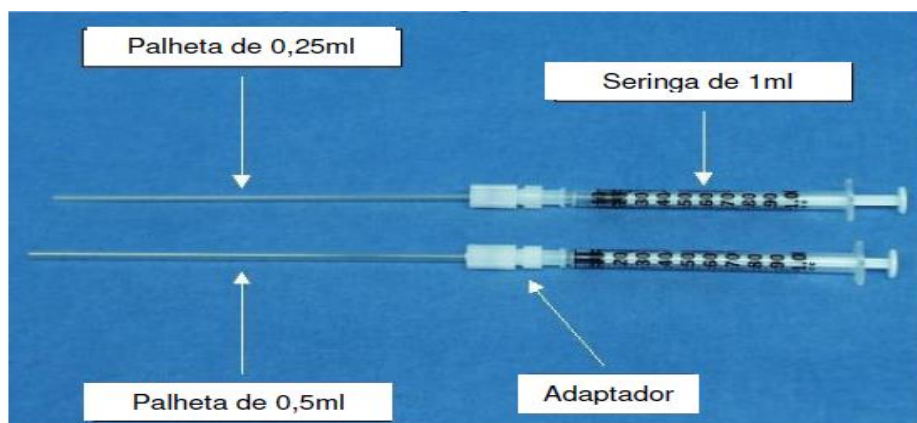
FONTE: FUTINO (2005) *apud* Squires (1993).



### 2.4.6 Manipulação e Classificação do embrião

Após a lavagem uterina para retirada do embrião, o mesmo é colocado em uma pequena placa de Petri (35 x 10 mm) contendo o mesmo meio da coleta. Então os embriões são identificados e classificados. Para a manipulação dos embriões pode ser utilizado uma palheta de congelamento de sêmen de 0,25 ou 0,5 ml (figura 3) (FUTINO, 2005). A maioria dos embriões encontra-se em fase de blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido, devido a data da coleta, entre os dias 7 a 9 após a ovulação da doadora (LENZI, 2008).

**Figura 3.** Equipamento de manipulação do embrião composto por uma palheta de congelamento de sêmen de 0,25 ou 0,5 ml, adaptador e seringa de 1 ml.



FONTE: FUTINO (2005).

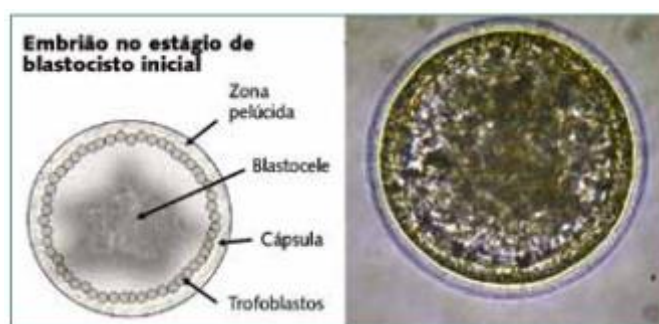
A classificação dos embriões equinos se dá através da sua avaliação morfológica, onde se baseia na forma, tamanho, cor, uniformidade, extrusões e degenerações de blastômeros. Essa fase de classificação dos embriões é de muita importância perante aos resultados, pois a qualidade do embrião equino é o que mais afeta as taxas de prenhez nos programas de transferência de embrião (FUTINO, 2005).

Os embriões que tem uma melhor taxa de prenhez são os transferidos no estágio de blastocisto inicial, blastocisto e blastocisto expandido (o estágio embrionário pode ser visto na figura 11) de grau 1 (figura 4, 5 e 6) e grau 2, seguindo uma escala variando de grau 1 (excelente) a 4 (degenerado ou

morto) e ainda os embriões UFO (ovócito não fertilizado), onde acordo com MCCUE (2011), é apresentada como:

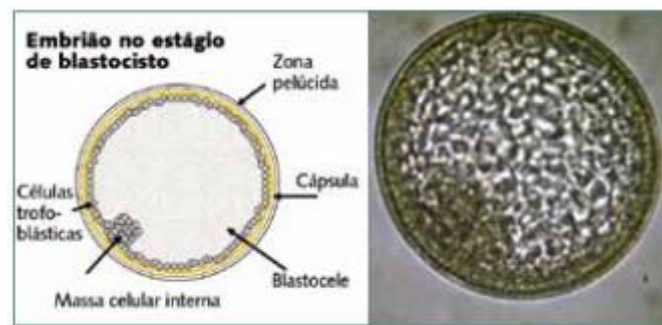
- Embriões grau 1 (Excelentes) - Sem anomalias visíveis; formato esférico; células de tamanho, cor e textura uniformes; tamanho e estágio de desenvolvimento adequados para a idade pós-ovulação (figura 4, 5 e 6);
- Embriões grau 2 (Bons) - Imperfeições mínimas, como alguns blastômeros extrusados; pequenas irregularidades de formato, tamanho, cor ou textura; pouca separação entre a camada trofoblástica e a zona pelúcida ou cápsula (Figura 7);
- Embriões grau 3 (Ruins) - Nível moderado de imperfeições, como grande percentual de blastômeros extrusados ou degenerados; colapso parcial da blastocèle ou afastamento moderado do trofoblasto da zona pelúcida ou cápsula (Figura 8);
- Embriões grau 4 (Degenerados ou mortos) - Problemas graves de fácil identificação, como alto percentual de blastômeros extrusados, colapso total da blastocèle, ruptura da zona pelúcida ou degeneração completa e morte do embrião (Figura 9);
- UFO- Ovócito não fertilizado (Figura 10).

**Figura 4.** Embrião equino Grau 1 no estágio de blastocisto inicial.



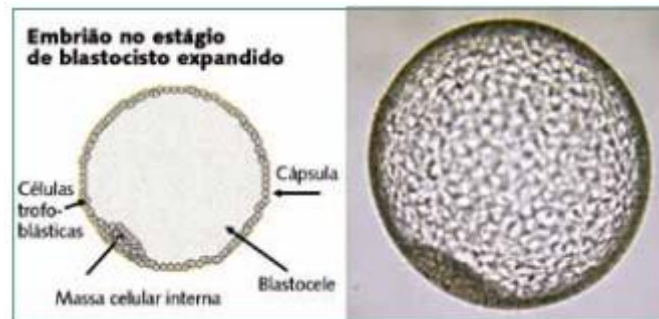
FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 5.** Embrião equino (Grau 1) no estágio de blastocisto



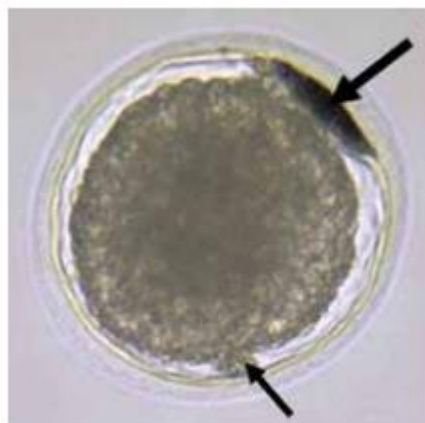
FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 6.** Embrião equino (Grau 1) no estágio de blastocisto expandido



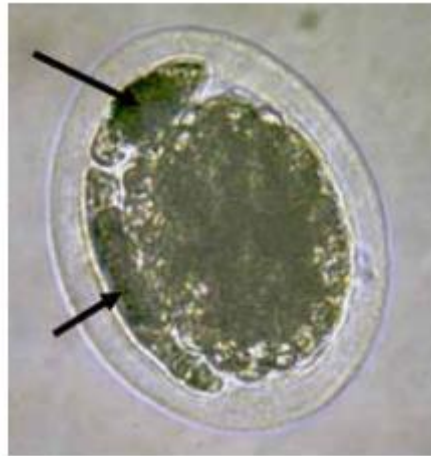
FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 7.** Embrião de grau 2 no estágio de blastocisto inicial; presença de blastômeros extrusados (setas).



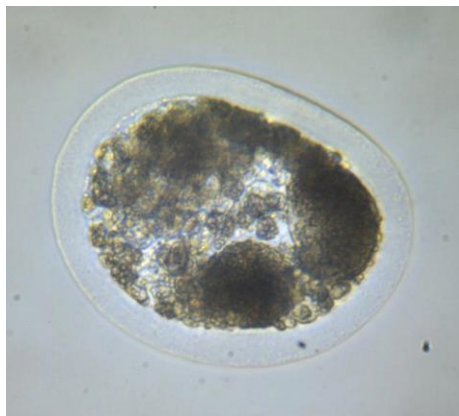
FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 8.** Embrião de grau 3 no estágio de mórula, com grande percentual de blastômeros extrusados (setas).



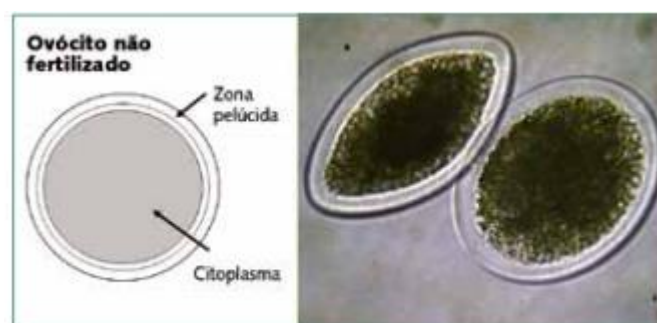
FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 9.** Oócitos degenerados, grau 4



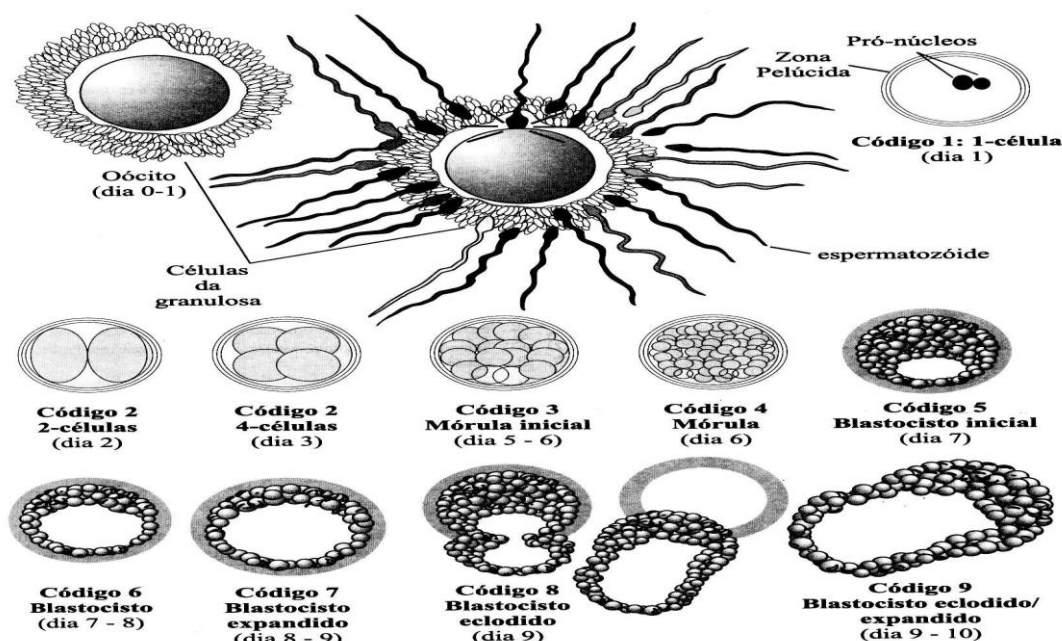
FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 10.** Par de ovócitos não fertilizados.



FONTE: MCCUE, 2011

**Figura 11.** Figura esquemática mostrando os estágios embrionários.



FONTE: LENZI, 2008.

Terminado o processo de avaliação e classificação do embrião, o mesmo passa por um processo de lavagem, onde normalmente é submetido em 5 a 10 passagens consecutivas no meio de manutenção, para retirar impurezas presentes na zona pelúcida, processo realizado na placa de petri, só então é envasado para ser inovulado (SILVA, 2014).

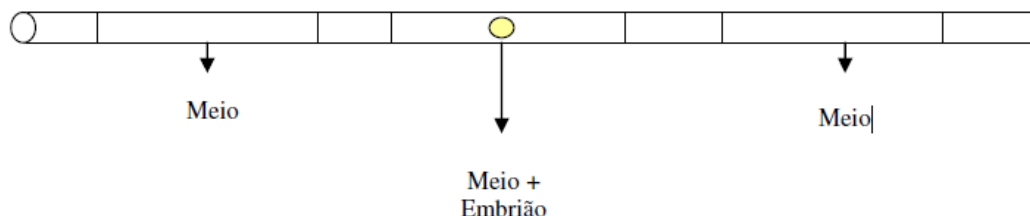
#### 2.4.7 Inovulação

O embrião pode ser resfriado e transportado para uma transferência posterior ou ser transferido logo após a recuperação embrionária, o procedimento de transferência pode ser realizado de forma cirúrgica ou não-cirúrgica (transcervicalmente). Atualmente, a maioria dos embriões é transferida de forma não-cirúrgica para receptoras sincronizadas. Para a transferência, os embriões são acondicionados em palhetas de 0,25 ou 0,5 ml ou então em pipetas de inseminação artificial e inseridos no corpo do útero utilizando-se para isso, um inovulador. Quando o embrião é aspirado para dentro de um instrumento de manipulação, a coluna de meio contendo o

embrião deve ser mantido de cada lado por colunas de ar de acordo com a figura esquemática 12 (SILVA, 2014). Isso previne que o embrião acidentalmente seja lesionado ocorrendo perdas durante a transferência (FUTINO, 2005).

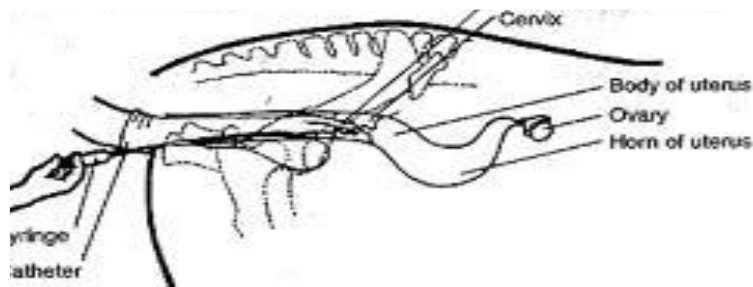
O material normalmente utilizado é uma pipeta de inseminação padrão, inovuladores descartáveis, uma bainha plástica é colocada sobre o instrumento. Com a égua receptora contida em tronco de contenção, a limpeza da região perineal é feita, então o profissional que está realizando a TE veste uma luva de plástico sobre seu braço. Uma pequena quantidade de lubrificante é aplicada na vulva. A extremidade distal do instrumento de transferência coberta pela bainha é colocada na palma da mão e protegida pelo dedo do operador. O instrumento é introduzido dentro da vagina e a ponta da bainha é introduzida na abertura externa da cérvix, representado com a figura 13 (FUTINO, 2005). O embrião pode ser depositado no corpo uterino ou em um dos cornos uterinos, momento no qual, o instrumento é empurrado através da camisa sanitária (SILVA, 2014).

**Figura 12.** Figura esquemática mostrando o embrião entre colunas ar e de fluidos dentro de uma palheta.



FONTE: FUTINO, 2005.

**Figura 13.** Figura esquemática mostrando a passagem pela cervix no momento da inovulação.



FONTE: SILVA, 2014.

#### 2.4.8 Confirmação da gestação com uso da ultrassonografia transretal

Para confirmação da gestação o uso da ultrassonografia transretal é uma pratica padrão, normalmente o período típico para o primeiro diagnóstico de gestação com ultrassom é entre o 13° e 15° dia pós-ovulação. A vesícula embrionária do 13° ao 19° dia parece uma estrutura anecóica (preta) dentro do lúmen do corno uterino. A vesícula embrionária do 18° ao 21° dia parece uma estrutura anecoica triangular no lúmen do corno uterino. O embrião pode ser visualizado nos 20° a 21° dias e os batimentos cardíacos podem ser observados e tempo real. A alantóide se desenvolve e promove ascensão do embrião de sua posição ventral, podendo ser vista por volta do 24° dia. Perto do 28° ao 30° dia o embrião é visto no centro da vesícula e volta ao topo por volta do 35° dia. Entre o 45 ° e 48° dia o embrião está suspenso pelo cordão umbilical, então desce para o espaço ventral (LEY, 2013).

Segundo CARVALHO (2012) *apud* Frazer (2004) & Jacob et al. (2012), após a transferência, pode ser feito o diagnóstico de gestação nas receptoras a partir dos 11 dias pós-ovulação. O exame ecográfico transretal neste dia pós-ovulação permite, a um técnico experiente, detectar 98% das gestações. No entanto, caso seja negativo deve-se repetir o exame ecográfico alguns dias depois. Caso seja positivo, deve ser novamente efetuado a partir dos 22-25 dias para verificação da existência de batimento cardíaco e depois por volta dos 45 dias, quando o conceito já é considerado um feto, para verificar a



ausência de morte embrionária. A maioria das perdas embrionárias ocorre nos primeiros dias após a fertilização ou durante o processo de implantação do embrião no útero.

Alguns dos fatores que contribuem para a morte são intrínsecos como as doenças do endométrio, função lútea insuficiente, a idade da égua, a lactação, o cio do potro, o tempo de inseminação relativamente ao tempo de ovulação, o local de fixação da vesícula embrionária e as anomalias cromossômicas maternas. Como fator extrínseco tem o *stress*, a nutrição, o clima, a palpação e ecografia transretal. Ainda podem ocorrer fatores embrionários como as alterações cromossômicas ou morfologia do embrião. No entanto estes fatores estão muitas vezes associados uns aos outros (CARVALHO, 2012).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Realizou-se a partir agosto de 2017 um trabalho de transferência de embriões nos equinos do haras Novo Teto no município Biguaçu- SC. O trabalho iniciou com duas éguas doadoras de embriões e sete éguas receptoras. Somente a partir do dia doze de outubro de 2017 foi implantado ao trabalho de TE mais duas doadoras, sendo que até o dia dez de novembro foram realizados dez coletas de embrião. Para início foi feito uma aplicação de prostaglandina na dose de 1 ml via IM (5 mg de Dinoprost) nas éguas doadoras e dois dias depois nas éguas receptoras, após 3 dias da aplicação iniciava um acompanhamento folicular dos animais com ultrassonografia transretal a cada 48 horas, cada animal tinha uma ficha para controle reprodutivo onde eram anotadas as informações do crescimento folicular e do tônus uterino (exemplo da ficha em apêndices 01), os folículos eram medidos e anotados, tanto das éguas doadoras como as éguas receptoras. A partir do momento em que os folículos passavam de 33 milímetros (mm) iniciava a cobertura das éguas doadoras, sendo feito por monta natural ou por inseminação artificial com sêmen a fresco, feitas a cada 48 horas até ser visto que a égua doadora já estivesse ovulada onde, continuava observando o crescimento dos folículos



das receptoras, sentindo necessidade principalmente quando a égua receptora não estava próxima a ovulação no dia da ovulação da égua doadora, usava-se uma aplicação de deslorelina (sincrorrelin®) na dose de 3 ml IM (750 ug). Continuando a observação dos folículos até o momento da ovulação.

**Figura 14.** Acompanhamento crescimento Folicular



FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

As éguas eram cobertas todas com o mesmo garanhão, portanto adotado como via de regra que quando apresentava apenas uma égua para cobrir a cobertura era por monta natural assistida, e quando tinha mais que uma era feito a coleta do sêmen do garanhão e inseminação artificial (IA) das éguas. Para fazer a IA da égua o garanhão era coletado com o uso de uma égua em cio e de uma vagina artificial. Vagina artificial munida de uma mucosa de látex, mucosa plástica descartável, copo coletor do ejaculado e filtro para separação da fração gel do ejaculado. Após a coleta de sêmen o copo coletor era retirado da vagina artificial retirado filtro para separação da fração gel. Então, o ejaculado era medido em um copo de Becker numerado e então

diluído o ejaculado com botusemen® (Leite em pó, açúcares, conservantes e excipientes), respeitando a diluição de 1 parte de sêmen para 1, 2, ou até 3 partes de diluente e dividindo as doses de acordo com o número de éguas a ser feita a IA. O volume de sêmen variavam de 30 a 60 ml de sêmen colocado em uma seringa de 60 ml acoplada a uma pipeta de IA. Com a égua já contida no brete era limpo com água corrente o posterior e seco com papel, só então feito a IA.

Após visto a data da ovulação da égua doadora era aguardado 8 dias para realizar a coleta do embrião, preconizava-se por receptoras que estivessem com 6 dias de ovuladas no dia da coleta para receber o embrião. As dez coletas de embriões realizadas foram utilizadas a égua doadora N1, sendo feitas três coletas nos dias 20/08/17, 25/09/17 e 09/11/17. N2, sendo feitas duas coletas nos dias 27/10/17 e 13/11/17. N 3, sendo feitas três coletas nos dias 23/09/17, 27/10/17 e 13/11/2017. A égua doadora N 4 sendo feitas duas coletas nos dias 27/10/17 e 13/11/17.

As coletas foram feitas pelo método de lavagem uterina, sendo utilizado para realização das coletas 3 litros de ringer com lactato por coleta, uma sonda estéril acoplada a um tubo Y onde em uma das extremidades acoplava-se a solução e na outra um copo coletor, e uma seringa de 60 ml para encher o balão. Com a égua doadora devidamente contida no tronco de contenção, a região perineal foi lavada com água, seca com papel e enfaixado a cauda. O procedimento era feito com introdução da sonda estéril através da vagina, passando pela cérvix e chegando ao corpo uterino. Então o balão foi inflado com 40 a 80 ml de ar, dependendo da égua, e então tracionado contra a abertura interna da cérvix para garantir a oclusão completa. Após a colocação da sonda, foi injetado pela sonda para dentro do útero um litro de Ringer Lactato, após terminar o primeiro litro de solução, é fechada a via da solução e aberta a via que dava acesso ao copo coletor, enquanto uma pessoa fazia a massagem do útero pela via retal outra ficava com o copo coletor na mão para que o copo coletor não esvaziasse. Esse mesmo processo era repetido por 3 vezes. Portanto, após o preenchimento do útero, o fluido é drenado através da sonda e é passado por um filtro encontrado dentro de um copo coletor, filtro esse que permite que o embrião fique retido no copo coletor. Após o término

das lavagens o balão foi esvaziado e a sonda foi retirada da égua e o tubo desacoplado do copo coletor, que era mantido com metade de sua capacidade com líquido. Após a coleta, todas as doadoras recebiam uma dose de 1 ml via IM (5 mg de Dinoprost) de prostaglandina.

**Figura 15.** Procedimento de lavagem do útero na coleta de embrião.



FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

**Figura 16.** Procedimento de recuperação do embrião pelo copo coletor.



FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

O copo coletor era esvaziado em uma Placa de Petri com marcações e se iniciava a procura pelo embrião, feita todas as vezes a olho nu, apenas passado para o microscópio quando não era encontrado o embrião a olho nu. Após a localização do embrião o mesmo passava por um processo de lavagem em meio de manutenção de embriões (BotuEmbrio®), onde colocava-se dez gotas do meio em uma placa de petri e então passava-se o embrião por todas as gotas. Para manuseio do embrião foi utilizada uma seringa de 3 ml acoplada a uma palheta de sêmen. Após a lavagem, o embrião era envasado na pipeta de IA, sendo o envasado com o meio que o embrião estava entre dois espaço e dois espaços com meio, em ambos os lados, só então a pipeta recebia uma camisinha sanitária e inovulado na égua receptora.

**Figura17.** Processo de lavagem dos embriões (BotuEmbrio®).



FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

Para inovulação, a égua receptora devidamente contida no tronco recebia uma limpeza da região perineal com água e seca com papel, e enfaixado a cauda. O procedimento era feito com introdução do aplicador através da vagina, passando pela cérvix e chegando ao corpo uterino, onde o embrião era depositado. Foram feitos no mesmo dia da inovulação uma aplicação de progesterona (P4) na dose de 5 ml (1.500 mg) , repetindo a cada 7 dias. Só então a égua era liberada, sendo as éguas receptoras mantidas em regime de campo e as éguas doadoras mantidas em baia individual.

#### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Foi realizado um total de dez coletas de embriões e todas as coletas foram realizadas com éguas doadoras sendo observado o dia da ovulação e coletadas com oito dias após a data da ovulação. Todas as éguas receptoras que foram inovuladas receberam 5 ml (1.500 mg) de P4 por via IM no dia da

TE e repetindo a dose a cada 7 dias. A coleta realizada na égua N1 que ocorreu no dia 20/08/17 foi obtido embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 16/08/17, portanto estava com 4 dias após a ovulação. No dia 26/08/2017 foi feito exame ultrassonográfico o qual se confirmou prenhez, sendo repetido no dia 12/09/17, constatando que a égua não estava mais gestante. Na coleta realizada no dia 25/09/17 foi obtido um embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 24/09/17, portanto estava com um dia após a ovulação. No dia 02/09/2017 foi feito exame ultrassonográfico o qual se negatizou a prenhez. A coleta realizada no dia 09/11/17, foi obtido embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 31/10/17, portanto estava com 9 dias após a ovulação. No dia 17/11/2017 foi feito exame ultrassonográfico o qual se negatizou a prenhez. Como resultado final para a égua N1, se obteve 3 embriões de 3 coletas porém nenhuma gestação, conseqüentemente não terá nenhum produto oriundo dos trabalhos feitos nesse período. Representando 100% de taxa de coleta de embriões e 0% de taxa de gestações sobre o número de embriões.

Na égua doadora N2 foram realizadas duas coletas. Na coleta realizada no dia 27/10/17 não foi obtido embrião. Já na coleta realizada no dia 13/11/17, foi obtido um embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 07/11/17, portanto estava com 6 dias após a ovulação. No dia 19/11/2017 foi feito exame ultrassonográfico no qual se confirmou prenhez. Como resultado final para a égua N2, se obteve 1 embrião de 2 coletas, e obteve-se uma prenhez. Representando 50% de taxa de coleta de embriões e 100% de taxa de gestações sobre o número de embriões.

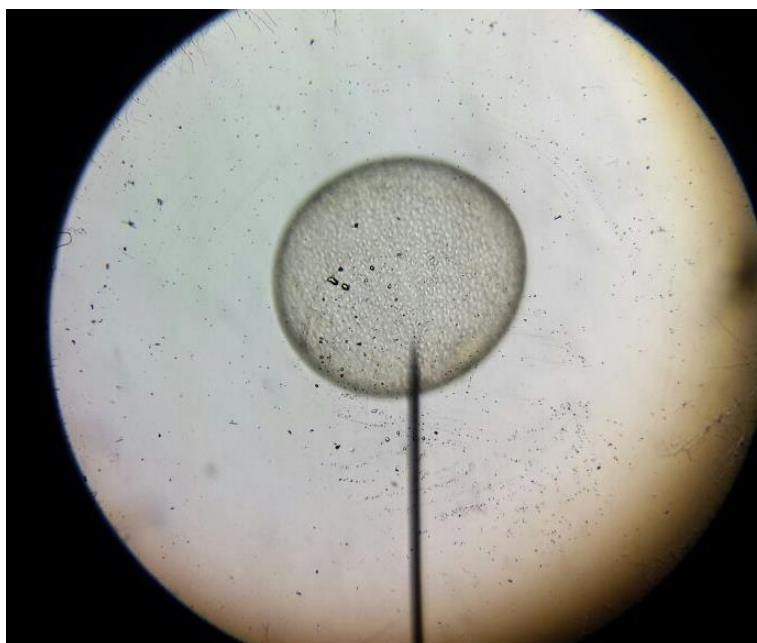
Na égua doadora N3 foram realizadas 3 coletas. Na coleta realizada no dia 23/09/17, foi obtido um embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 16/09/17, portanto estava com 7 dias após a ovulação. Porém, imediatamente após a ovulação foi detectado que a receptora estava com presença de secreção purulenta e a égua foi tratada com antibiótico por 5 dias, sendo o principal princípio ativo benzilpenicilina procaína (agrovit plus®) na dose de 10 ml por dia via IM (corresponde a 10.000 UI de benzilpenicilina procaína, 4,0 mg de diidroestreptomicina (sulfato), 0,3 mg de piroxicam e 0,86 mg de procaína (cloridrato) por kg de peso corporal ). No dia 30/09/2017 foi

feito exame ultrassonográfico o qual confirmou a prenhez. A ultrassonografia foi repetida no dia 06/10/2017 onde se negatizou a prenhez. Na coleta realizada no dia 27/10/17 foi obtido um embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 21/10/17, portanto estava com 6 dias após a ovulação. No dia 03/11/2017 foi feito exame ultrassonográfico o qual se confirmou a prenhez. Na coleta realizada no dia 13/11/2017 não foi obtido embrião. Como resultado final para a égua N3, se obteve 2 embriões de 3 coletas e obteve-se 1 prenhez. Representando 66,6% de taxa de coleta de embriões e 50% de taxa de gestações sobre o número de embriões.

Na égua doadora N4 foram realizadas duas coletas. Na coleta realizada no dia 27/10/17 foi obtido um embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 21/10/17, portanto estava com 6 dias após a ovulação. No dia 03/11/2017 foi feito exame ultrassonográfico o qual confirmou a prenhez. Na coleta realizada no dia 13/11/17 foi obtido um embrião e transferido para uma receptora que ovulou no dia 07/11/17, portanto estava com 6 dias após a ovulação. No dia 19/11/2017 foi feito o exame ultrassonográfico o qual se confirmou a prenhez. Essa égua usada como receptora foi a mesma égua que foi tratada para infecção bacteriana no dia 23/09/17. Como resultado final para a égua N4, se obteve 2 embriões de 2 coletas e obteve-se 2 prenheses. Representando 100% de taxa de coleta de embriões e 100% de taxa de gestações sobre o número de embriões.



**Figura 18.** Embrião equino coletado com 8 dias após a ovulação vista em imagem no microscópio.



FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

Antes de realizar as inovulações é recomendado avaliar com ultrassonografia os ovários, com intuito de avaliar a ecogenicidade do corpo lúteo, e avaliação do útero para avaliar o tônus uterino (LEY, 2013). Porém, das dez coletas de embriões realizadas se conseguiu no momento da TE apenas uma receptora para cada doadora e algumas não estava em sincronia no momento de cada coleta dificultando os trabalhos, ficando sem opção de éguas receptoras.

Foram realizadas dez coletas de embriões, sendo recuperados e transferidos oito embriões, obtendo-se seis prenhez com 14 a 20 dias, e, destas quatro prenhez se mantiveram acima de 24 dias, sendo que somente se mantiveram prenhez as receptoras que no dia da TE estavam com seis dias de ovuladas. Portanto as taxas ficaram em 80% para taxa de recuperação embrionária, 20% de taxa de perda embrionária sobre as coletas, 33,3% sobre os embriões recuperados, por fim 40% de taxa de prenhez sobre as coletas de embrião e 50% de taxa de prenhez sobre os embriões recuperados.

Sobre o exposto dos resultados obtidos saliento o parágrafo já citado anteriormente onde segundo SILVA (2014) *apud* WILSHER *et al.* (2005), a



interação entre embrião e ambiente uterino deve ser de completa sintonia, fato que é essencial para o haja o estabelecimento da gestação. A progesterona tem o poder de alterar marcadamente o ambiente uterino, onde um embrião pode encontrar um local desfavorável, em um útero não sincronizado, na qual não corresponde à fase na qual ele se encontra. Essa falta de sincronia pode também impedir o embrião de transmitir o sinal para o reconhecimento materno. Um dos pontos fundamentais no momento da escolha da receptora para a TE, é o momento pós-ovulatório em que a receptora se encontra.

Tabela 1 - Resultados obtidos das TE's realizadas no Haras novo teto no período de agosto a novembro de 2017.

<b>Nº da égua</b>	<b>Nº de coletas</b>	<b>Taxa de recuperação embonária % (nº)</b>	<b>Taxa de prenhez de 14 até 20 dias % (nº)</b>	<b>Taxa de prenhez acima 25 dias % (nº)</b>
<b>N1</b>	3	100 (3/3)	33,3 (1/3)	0 (0/1)
<b>N2</b>	2	50 (1/2)	100 (1/1)	100 (1/1)
<b>N3</b>	3	66,6 (2/3)	100 (2/2)	50(1/2)
<b>N4</b>	2	100 (2/2)	100 (2/2)	100 (2/2)
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>80 (8/10)</b>	<b>75 (6/8)</b>	<b>50 (4/8)</b>

## 5. CONCLUSÃO

A transferência de embriões dentro da criação de equinos possibilita a obtenção de mais de um produto por ano de uma determinada égua e eleva o ganho genético. Após as etapas da TE, podemos ter resultados muitas vezes bons e outras vezes frustrantes, isso depende de como está sendo realizado o trabalho, levando em consideração alguns fatores como: a nutrição dos animais selecionados, manejo sanitário, sincronização entre doadora e receptora, a quantidade e qualidade das receptoras utilizadas em um trabalho de TE.

Os trabalhos de TE na propriedade ainda estão sendo realizados dentro dessa estação reprodutiva, e, o principal fator limitante observado, foi o número de receptoras disponíveis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, M. A. Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas à receptora de embrião. 2008. **Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho" Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Campus de Botucatu. Botucatu – SP.
- ANDRADE, L. S. O ciclo estral da égua e o seu controle endócrino. **Fisiologia e manejo da reprodução eqüina**, 2º ed, Recife, p.57-63,1986.
- CARVALHO, ANA LÚCIA, 2012. **FATORES QUE INFLUENCIAM O SUCESSO DE UM PROGRAMA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EQUINOS**. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA-UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA.
- CINTRA, André G. de Campos, 2014. O CAVALO Características, Manejo e Alimentação. ,pp 294-297.
- FARIA, D.R & GRADELA A, 2010. **Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina** .Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.34, n.2, p.114-122, abr./jun. 2010. Disponível em [www.cbpa.org.br](http://www.cbpa.org.br)
- Frazer, G.S. (2004). Disorders of reproductive system. In S.M. Reed, W.M. Bayly & D.C. Sellon, *Equine Internal Medicine*, (second edition). Missouri: Saunders.
- FUTINO, Daniele Oga, 2005. **TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQÜINOS**-Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.
- GINTHER, O., 1979. Reproductive biology of the mare: basic and applied aspects.
- HAFEZ ESE, HAFEZ B.,2004. Reprodução Animal. 7.ed. Barueri: Manole,. pp 513.
- Jacob, J.C.F., Haag, K.T., Santos, G.O., Oliveira, J.P., Gastal, M.O. & Gastal, E.L. (2012). Effect of embryo age and recipient asynchrony on pregnancy rates in a comercial equine embryo transfer program. *Theriogenology*, 77, 1159-1166.
- KAINER, R.A., 2011. Internal Reproductive Anatomy. In A. McKinnon et al., eds. *Equine Reproduction*. Blackwell Publishing Ltd., pp. 1582–1597.
- LENZI, Cassiano, 2008. **TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQÜINOS**-Trabalho de conclusão do Curso de Mdicina Veterinária da Universidade de Tuiuti do Paraná.
- LEY, William B., 2013 Reprodução em Éguas para Veterinários de Equinos. – São Paulo, Roca. , pp. 48- 160.
- LEY, William B., 2013 Reprodução em Éguas para Veterinários de Equinos. – São Paulo, Roca. , pp. 106.

LIRA, R.A., PEIXOTO G.C.X., SILVA A.R., 2009. TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM EQUINOS: REVISÃO *Acta Veterinaria Brasilica*, v.3, n.4, p.132-140.

LOSINNO, L.; ALVARENGA, M. A. Fatores críticos em programas de transferência de embriões em equinos no Brasil e Argentina. In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, Araxá. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.39-49, 2006.

MCCUE, P. M., 2011. Transferência de Embriões em Equinos– Avaliação do Embrião / Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 9, n. 3 (2011), p. 80–83.

MEIRA, C. Endocrinologia da Reprodução, Dinâmica Folicular, Superovulação e Transferência de Embriões na Espécie Equina. (Área da Reprodução) – **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP**, 2007.

MELO, C.M., 2006 Indução de ovulação em éguas. 2006. 24f. Monografia (Doutorado em Reprodução Animal) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP.

MONTECHIESI D.F., 2015 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM EQUINOS E OS FATORES RELACIONADOS AS TAXAS DE PRENHEZ- *Ciência Animal*,– Edição Especial, 25(1); 187-194.

SILVA, Sofia Manuela Mota & QUARESMA, Dr. Miguel Nuno Pinheiro, 2017. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. , pp. 6- 30.



















SILVA, Artur George Pereira Ferreira., 2014. Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

TEZZA, L. & DITTRICH, J., 2006. Reprodução em Equinos. , pp.1–13.

## APÊNDICES

## Central da Serra – Controle Reprodutivo

Proprietário: <i>Haroldo Novo Teto</i>	Propriedade:
Égua: <i>SMOKIV</i>	Pelagem: RP:
Garanhão:	Contato:

Data:	Observação:	Data:	Observação:
12/10	 PGF22	06/11	<i>cc</i>  V-0
18/10	<i>59</i>  U-I/0 I.A	13/11	 <i>coleta</i> PGF22
20/10	 <i>ou coleta</i>		
27/10	 PGF22		
27/10	 <i>SENA</i> PGF22 <i>coleta</i>		
05/11	<i>32</i>  U-II		
04/11	<i>35</i>  U-III		
02/11	<i>37</i>  U-III		
 03/11	<i>43</i>  U-III I.A		